

# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

О.А. Вислоус, Н.Ю. Бевз, Н.В. Живора, П.А. Безуглый

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АТЕНОЛОЛА В ТАБЛЕТКАХ ТОНОРМА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

*В статье представлены результаты исследования по разработке спектрофотометрической методики количественного определения ателолола в комбинированном гипотензивном лекарственном средстве с тройным механизмом действия «Тонорма». Методика основана на измерении оптической плотности производного гидроксамовой кислоты при длине волны 500 нм. Подчиняемость закону Бугера-Ламберта-Бера наблюдается в пределах концентрации ателолола от 0,1 – 0,5 мг/мл. Подобранны температурный режим образования производного гидроксамовой кислоты, условия и время протекания реакции, изучено влияние остальных действующих и вспомогательных веществ таблеток на характер спектра. В результате проведения исследований установлено, что содержание ателолола в лекарственной форме «Тонорма» не превышает нормы допустимых отклонений  $\pm 5\%$ , что соответствует требованиям Государственной фармакопеи Украины.*

**Ключевые слова:** антигипертензивное лекарственное средство, спектрофотометрия, ателолол, таблетки.

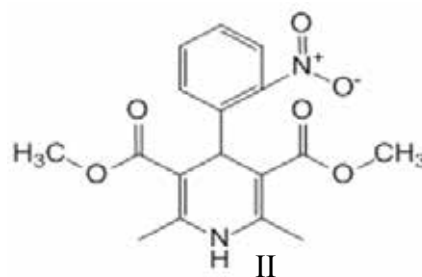
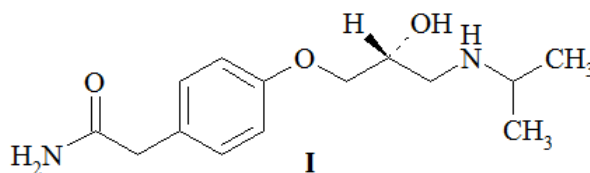
### ВВЕДЕНИЕ

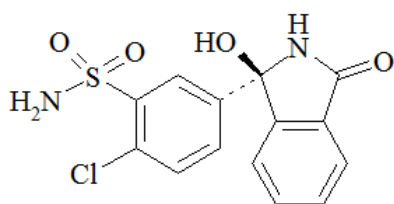
В последние годы для лечения сердечно-сосудистых заболеваний в медицинскую практику внедрены новые эффективные антиангинальные, антигипертензивные, антиаритмические средства. Однако монотерапия заболеваний сердца и сосудов не всегда приводит к выраженному фармакотерапевтическому эффекту. Это обусловлено тем, что в развитии этой патологии принимают участие различные этиопатогенетические факторы [1].

В настоящее время перспективной является комбинированная терапия, прежде всего – применение фиксированных комбинаций, которым, следуя международным и отечественным рекомендациям, все чаще отдают предпочтение даже на самых начальных этапах лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Комбинированные лекарственные средства (ЛС) широко используются в различных отраслях медицины для лечения большинства заболеваний, в том числе для самого распространенного и социально-значимого – артериальной гипертензии (АГ). Гипертоническая болезнь и ее осложнения наряду с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями являются основной причиной смертности в странах

СНГ. Лечение артериальной гипертензии – одна из наиболее актуальных проблем современной кардиологии.

Тонорма – комбинированное ЛС гипотензивного профиля действия. Объединяет три антигипертензивных средства первого ряда: кардиоселективный бета<sub>1</sub>-адреноблокатор – ателолол (I) [2, 3], дигидропиридиновый вазодилататор – нифедипин (II) [4], тиазидоподобный диуретик длительного действия – хлорталидон (III) [5]. Компоненты ЛС взаимодействуют между собой как синергидная композиция:





## III

Актуальными являются разработка и стандартизация методов контроля качества активных фармацевтических ингредиентов при совместном присутствии.

Количественное определение атенолола в таблетках рекомендуется проводить методом УФ-спектрофотометрии [6 – 8], высокоэффективной жидкостной хроматографии [6, 9].

В литературе [10, 11] описана методика определения атенолола и хлорталидона в таблетках при совместном присутствии спектрофотометрическим методом. Расчет содержания действующих веществ проводят методом наименьших квадратов, т.к. максимумы поглощения их наблюдаются при тех же длинах волн (атенолол в спирте при 275 нм и 282 нм, хлорталидон в том же растворителе – при 275 нм и 284 нм соответственно).

Целью нашей работы является разработка методики количественного определения атенолола в смеси с нифедипином и хлорталидоном.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования является лекарственная форма таблетки Тонорма

(производитель ФФ «Дарница», Украина, серия 201010). 1 таблетка содержит атенолола 100 мг; хлорталидона 25 мг; нифедипина 10 мг. В качестве стандарта использовали стандартный образец атенолола (фармакопейный стандартный образец ГФУ, серия M110203), вспомогательные вещества и реактивы, которые соответствуют требованиям ГФУ.

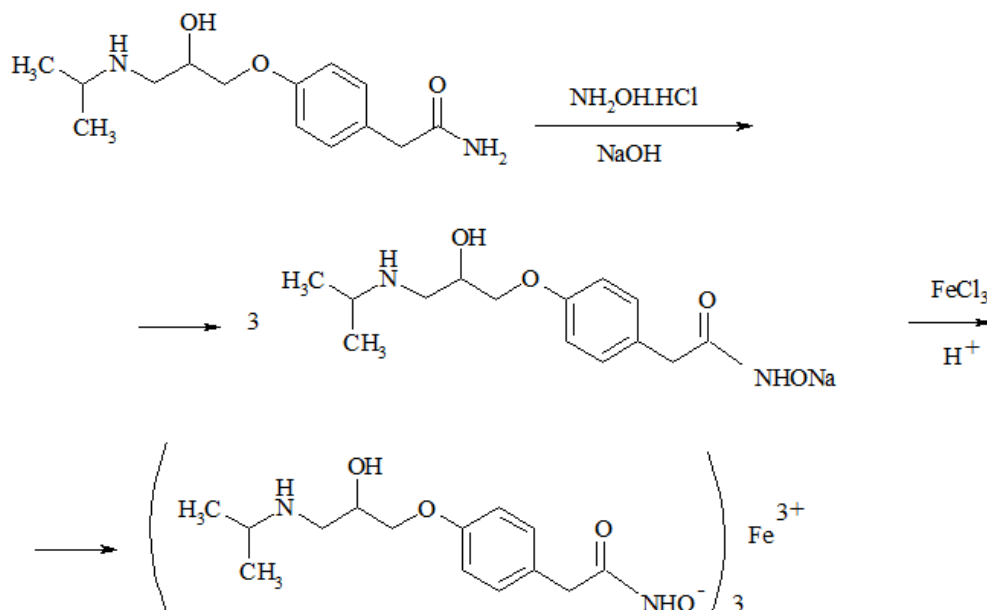
Аналитические исследования проводили методом спектрофотометрии с использованием спектрофотометра Evolution 60S, весов лабораторных «AXIS» ANG 200 (Польша), мерной посуды класса А.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В отличие от других активных фармацевтических ингредиентов, атенолол в своей структуре содержит амидную группу, для идентификации и количественного определения которой можно использовать гидроксамовую пробу [12]. Именно эта реакция (схема 1) и была использована нами для разработки методики количественного определения атенолола методом спектрофотометрии в видимой области спектра. Для достижения поставленной цели необходимо было изучить характер спектра, время протекания реакции образования производного гидроксамовой кислоты, влияние действующих (нифедипин и хлорталидон) и вспомогательных веществ таблеток на результаты анализа.

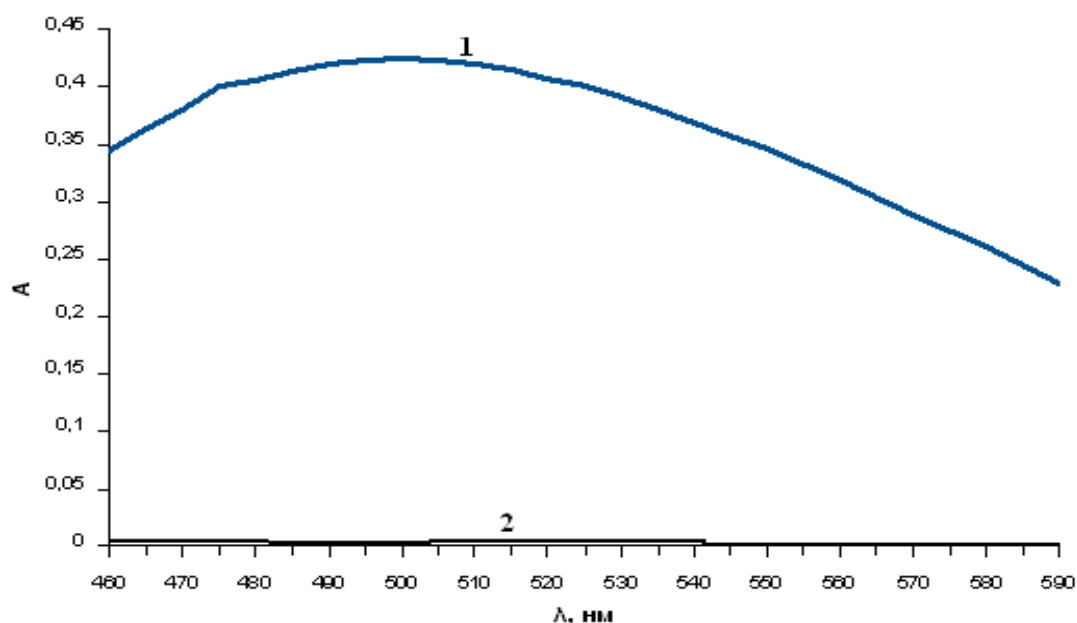
Для этого нами был приготовлен стандартный раствор атенолола, проведена ре-

Схема 1



акция образования гидроксамата железа (III) и снят спектр поглощения полученного окрашенного соединения в области от 460 нм до 590 нм. На основании получен-

ных результатов установлено, что абсорбционный спектр раствора характеризуется достаточно широким плато при длине волны  $500 \pm 3$  нм (рисунок 1).



1 – модельная смесь; 2 – модельная смесь без атенолола

Рисунок 1 – Абсорбционный спектр

Время протекания реакции образования производного гидроксамовой кислоты, как известно из литературы [12 – 15], колеблется от 30 мин до 240 мин и более, температурный режим реакции составляет от 25°C до 90°C. Нами было определено, что при температуре 25°C реакция практически не проходит, т.к. в результате реакции с раствором железа (III) хлорида в кислой среде образовывалось желто-коричневое окрашивание, вместо ожидаемого красно-фиолетового. Экспериментально установлено, что оптимальной температурой протекания данной реакции является 60°C.

Для установления времени протекания реакции нами были приготовлены серии стандартных растворов атенолола одинаковых концентраций от 0,1 до 0,5 мг/мл, к которым прибавляли 1 мл смеси одинаковых объемов 2 М раствора гидроксилами-

на гидрохлорида и 3,5 М раствора натрия гидроксида. Реакционную смесь выдерживали на водяной бане при температуре 60°C в течение 30 мин, 60 мин, 70 мин, 80 мин, 90 мин, 100 мин, 110 мин и 120 мин соответственно. Затем через указанные промежутки времени реакционную смесь охлаждали и прибавляли 1 мл 0,7 М раствора железа (III) хлорида в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной, доводили до 50,0 мл 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной и перемешивали.

Определяли оптическую плотность полученных окрашенных растворов на спектрофотометре при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения 1 мл 0,7 М раствора железа (III) хлорида, доведенного до 50,0 мл 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты определения времени протекания реакции образования гидроксамовой кислоты

Время протекания реакции	30 мин	60 мин	70 мин	80 мин	90 мин	100 мин	110 мин	120 мин
A	0,322	0,424	0,448	0,552	0,560	0,554	0,436	0,364

Полученные результаты свидетельствуют о том, что реакция образования производного гидроксамовой кислоты полностью протекает через 90 мин при нагревании на водяной бане при температуре 60°C. Дальнейшее уменьшение оптической плотности предположительно свидетельствует о протекании реакции гидролиза.

Для установления влияния остальных действующих и вспомогательных веществ таблеток на характер спектра поглощения была проведена реакция образования гидроксамата железа (III) с модельной смесью таблеток и с модельной смесью таблеток без атенолола (рисунок 1).

Установлено, что нифедипин, хотя и содержит в своей структуре сложноэфирные группы, в данных условиях не вступа-

ет в реакцию образования гидроксаматов, так как оптическая плотность модельной смеси после проведения реакции такая же, как и гидроксамата атенолола. Хлорталидон и вспомогательные вещества таблеток также не мешают определению.

Для установления подчиняемости закону Бугера-Ламберта-Бера были приготовлены стандартные растворы атенолола различной концентрации, проведена реакция образования производного гидроксамовой кислоты и определены оптические плотности полученных окрашенных растворов.

Полученные данные зависимости оптической плотности от концентрации полученных окрашенных растворов приведены на рисунке 2.

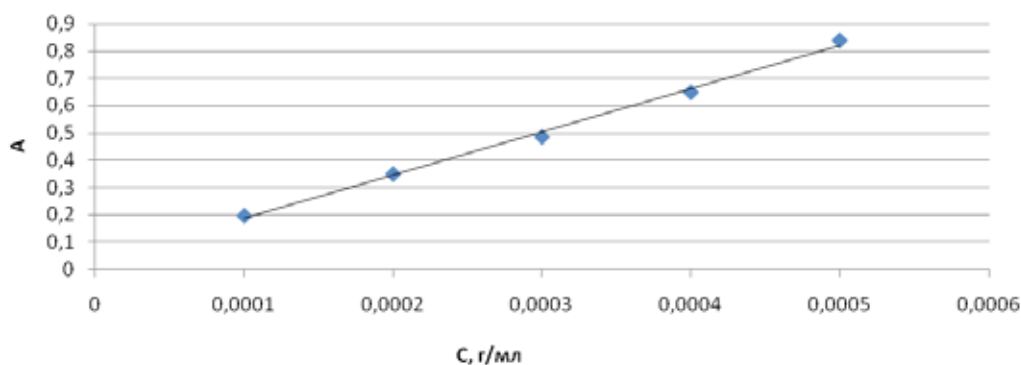


Рисунок 2 – Зависимость оптической плотности полученных растворов атенолола от их концентрации

Как показали результаты исследований, подчинение растворов производного гидроксамовой кислоты закону Бугера-Ламберта-Бера наблюдается при длине волны 500 нм в пределах концентраций 0,1 – 0,5 мг/мл.

Методика была использована нами для определения количественного содержания атенолола в таблетках Тонорма.

#### Методика количественного определения атенолола в таблетках Тонорма

Точную навеску порошка 20 растертых таблеток, эквивалентную 25 мг атенолола, помещают в мерную колбу вместимостью 50,0 мл, взбалтывают с 30 мл спирта этилового, доводят объем раствора спиртом этиловым до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата.

5,00 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, затем при-

бавляют 1 мл смеси одинаковых объемов 2 М раствора гидроксилamina гидрохлорида и 3,5 М раствора натрия гидроксида. Реакционную смесь выдерживают на водяной бане при температуре 60°C в течение 90 мин. Затем реакционную смесь охлаждают и прибавляют 1 мл 0,7 М раствора железа (III) хлорида в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной, доводят до метки 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной и перемешивают.

Параллельно проводят реакцию с 5,00 мл стандартного раствора атенолола.

Определяют оптическую плотность полученных окрашенных растворов на спектрофотометре при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения 1 мл 0,7 М раствора железа (III) хлорида, доведенного до 50,0 мл 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной.

Содержание атенолола в миллиграммах рассчитывают по формуле:

$$x, z = \frac{A \cdot m_0 \cdot 50,0 \cdot 5,00 \cdot 100 \cdot m_{cp} \cdot 1000}{A_0 \cdot m_n \cdot 50,0 \cdot 5,00 \cdot 100} = \frac{A \cdot m_0 \cdot m_{cp} \cdot 1000}{A_0 \cdot m_n},$$

где  $A$  – оптическая плотность исследуемого раствора;

$A_0$  – оптическая плотность раствора стандартного образца атенолола;

$m_0$  – масса навески стандартного образца атенолола, в граммах;

$m_n$  – масса навески порошка растертых таблеток, в граммах;

$m_{cp}$  – средняя масса одной таблетки, в

граммах.

Приготовление раствора стандартного образца атенолола. 0,25 г (точная навеска) ФСО атенолола растворяют в 30 мл спирта этилового и доводят объем раствора тем же растворителем до 50,0 мл.

Полученные результаты количественного определения атенолола в таблетках методом спектрофотометрии в видимой области спектра и метрологические характеристики средних результатов приведены в таблице 2.

Таким образом, как видно из данных таблицы 2, относительная ошибка среднего результата  $\pm 1,07\%$  не превышает нормы допустимых отклонений  $\pm 5\%$  [9], и методика может быть использована для количественного определения атенолола.

Таблица 2 – Результаты количественного определения атенолола в таблетках

m <sub>n</sub> , г	1,0560	1,0030	1,0013	1,0009	1,0021	1,0027		
A	0,463	0,430	0,455	0,444	0,460	0,456		
A <sub>0</sub>	0,458							
m <sub>0</sub> , г	0,2500							
Найдено, мг	98,5	96,4	102	99,5	103	102		
Метрологические характеристики методики спектрофотометрического определения атенолола								
n	$\bar{x}$	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	P	t (P, n)	Δ $\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$ , %
5	100,2	6,35	2,52	1,03	95	2,5706	1,1	1,07

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработана методика спектрофотометрического количественного определения атенолола, основанная на реакции образования окрашенного гидроксамата железа (III).

2. Установлено время проведения реакции образования производного гидроксамовой кислоты и подобран температурный режим.

3. Установлено, что спектр поглощения окрашенного соединения характеризуется максимумом поглощения при длине волны 500 нм, подчиняемость закону Бугера-Ламберта-Бера наблюдается в пределах концентраций 0,1 – 0,5 мг/мл.

## SUMMARY

O.A. Vislous, N.Y. Bevz,  
N.V. Givora, P.A. Bezugly  
ASSAY OF ATENOLOL TABLETS  
TONORMA BY SPECTROPHOTOMETRY

The article presents the results of a study on the development of spectrophotometric method of quantitative determination of atenolol in combinatorial antihypertensive medication with a triple mechanism of action "Tonorma". The method is based on measuring optical density of the hydroxamic acid derivative with a wave-length of 500 nm. Subjugation to the Bouguer-Lambert-Ber law is observed within concentration of atenolol from 0,1 – 0,5 mg/ml. Temperature mode of formation of hydroxamic acid derivative, conditions and time of the reaction were selected, the effect of the other active substances and excipients of tablets on the nature of the spectrum were studied. As a result of the research it was found out that the content of atenolol in the dosage form "Tonorma" did not exceed the norm of tolerance of  $\pm 5\%$ , which corresponds to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: antihypertensive drug, spectrophotometry, atenolol, tablets.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чекман, И.С. Комбинированные препараты в лечении артериальной гипертензии и хронической сердечной недостаточности / И.С. Чекман // Здоров'я України. – 2003. – № 64. – <http://health-ua.com/articles/53.html>.
2. Государственная фармакопея Украины. Первое издание / Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр». – Харьков: РИРЕГ, 2001.
3. Государственная фармакопея Украины. Первое издание, дополнение 4 / Государственное предприятие «Украинский научно-фармакопейный центр качества лекарственных средств». – Харьков: Государственное предприятие «Украинский научно-фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2011.
4. Государственная фармакопея Украины. Первое издание, дополнение 2 / Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр». – Харьков: Государственное предприятие «Научно-экспертный фармакопейный центр», 2008. – 620 с.
5. European pharmacopoeia, 6-th edition. – Strasbourg: Council of Europe, 2007.
6. Basavaiah, K. Determination of atenolol in pharmaceuticals by high-performance liquid chromatography and spectrophotometry / K. Basavaiah, U. Chandrashekhara // Bulgarian Chemical Communications. – 2006. – Vol. 38. – P. 104 – 111.
7. Validation of UV-spectrophotometric and HPLC methods for quantitative determination of atenolol in pharmaceutical preparations / A. Weich [et al.] // Latin American Journal of Pharmacy. – 2007. – Vol. 26. – P. 765 – 770.
8. Ferraro, M.C. Chemometrics-assisted simultaneous determination of atenolol and chlorthalidone in synthetic binary mixtures and pharmaceutical dosage forms / M.C. Ferraro, P.M. Castellano, T.S. Kaufman // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2003. – Vol. 377. – P. 1159 – 1164.
9. Micellar liquid chromatography / M.J. Ruiz-Angel [et al.] // Suitable technique for screening analysis. J. Chromatogr. – 2002. – Vol. 947. – P. 31 – 45.
10. Mohamed, Abd El-Maabound I. Determination of antihypertensive mixtures by use of a chemometrics-assisted spectrophotometric method / Abd El-Maabound I. Mohamed // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2005. – Vol. 382, № 4. – P. 1066 – 1072.
11. Wehner, W. Determination of atenolol and chlorthalidone during dissolution of tablets with UV multicomponent analysis / W. Wehner // Pharmazie. – 2000. – Vol. 55. – P. 543 – 544.
12. Spectrophotometry determination of atenolol via hydroxamic acid formation / Y.K. Agarwal [et al.] // Anal. Lett. – 1992. – Vol. 25. – P. 1503 – 1510.
13. Коренман, И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений / И.М. Коренман. – изд. 2-е, пер. и доп. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
14. Дудко, В.В. Анализ лекарственных веществ по функциональным группам: Учебное пособие / Дудко В. В. – Томск: Изд-во НТЛ, 2004. – 140 с.
15. Kudige, N. Prashanth. Simple, sensitive and selective spectrophotometric methods for the determination of atenolol in pharmaceuticals through charge transfer complex formation reaction / N. Prashanth Kudige, Basavaiah Kanakapura // Acta Poloniae Pharmaceutica. – 2012. – Vol. 69, № 2. – P. 213 – 223.

## Адрес для корреспонденции:

61168, Украина,  
г. Харьков, ул. Блюхера, 4,  
Национальный фармацевтический университет,  
кафедра фармацевтической химии,  
тел.: (0572) 67-91-97,  
e-mail: farmchem@ukrfa.kharkov.ua,  
Вислюс О.А.

Поступила 15.05.2014 г.